

微生物所提出1-脱氧野尻霉素高通量筛选方法

文章来源: 微生物研究所 发布时间: 2015-04-13 【字号: 小 中 大】

我要分享

小分子化合物的高通量筛选技术对优化小分子的生物合成途径研究十分重要。合成途径中关键酶的活性及相关酶表达通量的均衡性等因素均可能影响目标产物的产量, 一项设计巧妙的高通量筛选方法可以为优化或解决这些瓶颈提供极大助益。

1-脱氧野尻霉素(1-DNJ)是一种多羟基哌啶类生物碱, 具有葡萄糖类似结构, 可以竞争性抑制 α -糖苷酶活性。1-DNJ及其衍生物具有很高的药用价值, 可应用于非胰岛素依赖性糖尿病、HIV感染及高歇氏病等疾病的治疗。1-DNJ在自然界中存在于桑树等植物中, 一些微生物中也有发现, 但均含量极低, 优化其在微生物中的合成途径以提高其产量具有重要意义。然而, 如大多数小分子化合物一样, 1-DNJ也不适于常规的颜色或荧光检测方法, 这限制了对其代谢途径的快速优化研究, 因此十分有必要建立一种针对1-DNJ的简便、经济、灵敏的高通量筛选方法。

中国科学院微生物研究所研究员唐双焱课题组发现1-DNJ具有对 β -半乳糖苷酶LacS的抑制活性, 并利用这一特性建立了一种可以在琼脂平板上进行颜色筛选的高通量筛选方法。LacS是一种来源于*Sulfolobus solfataricus*的 β -半乳糖苷酶, 可以水解X-GAL为蓝色化合物。在大肠杆菌中表达来源于*Bacillus spp.*的TYB基因簇(包含*gabT1*、*yktc1*和*gutB1*三个基因)可以实现1-DNJ在大肠菌中的合成。将*lacS*基因插入到*E. coli* BW25113中, 构建表达宿主菌BWLacS, 后者在添加X-GAL的平板上生长时菌落呈现蓝色。在此菌株内表达TYB基因簇, 由于合成的1-DNJ抑制了LacS的水解活性而使菌落蓝色变浅。当表达针对TYB基因簇构建的突变体文库时, 因不同突变体合成1-DNJ的能力不同造成对LacS活性的抑制程度不同, 使菌落呈现蓝白不一的颜色表型, 1-DNJ合成量越高则菌落颜色越白, 从菌落的颜色表征可以达到对胞内1-DNJ产量进行高通量筛选的目的。在此基础上, 研究人员对1-DNJ在微生物中的合成途径进行了两方面的改造。首先, 针对合成途径中的关键酶GutB1构建易错突变体文库, 并利用研究中所构建的高通量筛选方法进行筛选, 得到一株突变体, 其1-DNJ合成量提高了54%。然后, 通过对TYB基因簇不同基因间的可调区域建立突变体文库并进行筛选, 期望对TYB基因簇中不同酶的表达通量进行优化, 筛选到1-DNJ合成量提高68%的突变体。

这些结果已于2月24日在*Scientific Reports*发表, 题为*Design and Application of a Novel High-throughput Screening Technique for 1-Deoxyojirimycin*。唐双焱课题组的助理研究员蒋培霞和硕士研究生穆姗姗为该文章的第一作者, 唐双焱与北京工商大学教授金建明为该文的共同通讯作者。该研究得到了“973”及国家自然科学基金项目的资助。

[文章链接](#)

热点新闻

中科院学术委员会召开研究所“...

- 中科院“率先行动”计划组织实施方案
- 中科院期刊国际影响力再创新高
- 国科大举行2015年学位授予仪式
- 白春礼《人民日报》文章: 创造未来的科...
- 中科院广东省全面战略合作领导小组会议召开

视频推荐

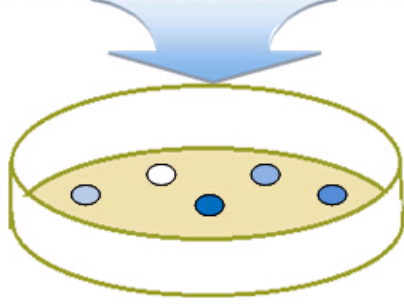


【新闻直播间】天津: 蓝藻染绿海河 治理刻不容缓

专题推荐



相关新闻



微生物所提出1-脱氧野尻霉素高通量筛选方法

(责任编辑: 叶瑞优)

附件:



© 1996 - 2015 中国科学院 版权所有 京ICP备05002857号 京公网安备110402500047号 可信网站身份验证 联系我们
地址: 北京市三里河路52号 邮编: 100864

